ZEITLICHE NACHWEISGRENZEN DER AMYLASE-PHÄNOTYPEN AN SPEICHEL-SPUREN MITTELS DER ELEKTROFOKUSIERUNG

Andres Raul Kaindl

1984

Diss
München

AUS DEM INSTITUT FOR RECHTSMEDIZIN DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Vorstand: Prof. Dr. W. Spann

ZEITLICHE NACHWEISGRENZEN DER AMYLASE-PHÄNOTYPEN AN SPEICHEL-SPUREN MITTELS DER ELEKTROFOKUSIERUNG

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnmedizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Andres Raul Kaindl
aus Palo Alto, Kalifornien

München 1984

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Dr. E. Tutsch-Bauer
Mitberichterstatter: Prof. Dr. W. Spann

Dekan: Prof. Dr. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung: 8. Nov. 1984

gewidmet

Maximilian und Ruth Kaindl

und

Aune

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

I. Einführung 1

II. Aufgabenstellung 5

III. Untersuchungsmaterial
und Methode 6

IV. Ergebnis 11

V. Diskussion 15

VI. Zusammenfassung 19

VII. Literaturverzeichnis 2o

EINFOHRUNG

Bei der heutigen Verbrechensaufklärung hat die forensiche Medizin eine wichtige Bedeutung. Sie ermöglicht durch den Nachweis und die Identifizierung von körperlich biologischen Stoffen, daß der Täterkreis näher umrissen werden kann. Die forensische Medizin sucht somit nach immer mehr und besseren Möglichkeiten, um die Verbrechensaufklärung zu erleichtern.

Hierbei ist auch Speichel in Erwägung zu ziehen, da bei vielen Verbrechen Gegenstände, wie z.B. Zigaretten, benutzte Gläser, Gesichtsmasken u.ä. zurückgelassen werden, auf denen Speichelspuren zu vermuten sind. Somit wäre auch Speichel als zusätzliche Hilfe für die forensische Medizin von großer Bedeutung, sofern beim Speichel individuelle genetische Merkmale vorhanden sind und es insbesondere gelingt, diese nachzuweisen. Ziel der Untersuchungen ist in erster Linie festzustellen, ob und wie lange Speichel nachweisbar ist, da die Spurensicherung in der Regel erst Stunden oder Tage nach dem begangenen Verbrechen am Tatort eintrifft.

Die gegenwärtigen Speicheluntersuchungen in der medizinischen Kriminalistik erfolgen größtenteils nach dem

ABO-System. Diese Untersuchungsmethode basiert auf der Erkenntnis, daß Immunglobuline in bestimmten Körperflüssigkeiten vorhanden sind, wie z.B. Speichel, Schweiß, Sperma etc. Allerdings sind die Merkmale des ABO-Systems nur bei einem Teil der Menschen in den Körperflüssigkeiten nachweisbar; sog. Ausscheider,deren Frequenz in Europa ca. 75 - 78 % beträgt.

Da die Individualisierung der verschiedenen Speicheltypen mit einer Methode nur begrenzt ist, besteht eine große Herausforderung, zusätzliche Methoden zur besseren und genaueren Speicheluntersuchung zu finden, um so den Täterkreis weiter eingrenzen zu können. Hierzu benötigt man einen statistisch nachweisbaren Bestandteil in der zu untersuchenden Flüssigkeit Speichel.

Als weiteren wichtigen Bestandteil enthält Speichel das stärkespaltende Enzym Amylase.[9)] Dieses wurde bereits 1831 durch LEUCHS entdeckt. Ziel der Untersuchungen muß es also sein, die Amylase näher zu ergründen.

In den fünfziger Jahren begann BERNFIELD[2)] sich mit der Heterogenität von Amylase allgemein näher zu beschäftigen. In seinen Untersuchungen stellte er fest, daß Pankreas- und Speichelamylase die gleiche Heterogenität besitzen.

1965 begannen KAMARYT und LAXOVA[5)] die Heterogenität

des Amylaseenzymes näher zu untersuchen. In diesen und den nachfolgenden Untersuchungen von OGITA (1966),[12] WARD et al (1971),[19] SKUDE (1971),[15] MERITT et al (1973)[11] wurden Speichelamylaseenzyme auf Papier, Celluloseacetat, Agargel oder Polyacrylamidegel aufgetragen und durch Elektrophorese separiert. Bei diesen Untersuchungen war jedoch die Zahl der individualisierten Phänotypen verhältnismäßig gering. Dieses war die Folge der geringeren Nachweisempfindlichkeit der Elektrophorese-Methode.

Als erster begann 1969 BEELEY[1] - im Rückgriff auf Untersuchungen von SVENSSON (1961)[17] und VESTERBERG (1966)[18] - mit der Separation von Speichelamylase durch Iso-Elektrofokusierung auf Polyacrylamidgel. BEELEY stellte bei seinen Untersuchungen fest, daß die Speichelproteine bestimmte isoelektrische Werte haben. Dieses Ergebnis bildete eine wichtige Grundlage für die Identifikation von Speichelamylasephänotypen.

1971 begannen auch MEITES und ROGALS[10] - aufbauend auf den Untersuchungen von KAMARYT und LAXOVA (Elektrophorese) - die Speichelamylaseuntersuchungen mit der Methode der Elektrofokusierung durchzuführen.

1972 gelang es SKUDE und JEPPSON[16], zwei Gruppierungen von Speichelamylase durch Elektrofokusierung zu unterscheiden.

1978 konnte DE SOYZA[3)] sechs Speichelamylasegruppierungen unterscheiden. Auch sie benutzte bei ihren Untersuchungen Polyacrylamidegel und die Methode der Iso-Elektrofokusierung.

AUFGABENSTELLUNG

Die zuvor dargestellten Untersuchungen wurden jeweils unter idealen Verhältnissen durchgeführt; d.h. der Speichel wurde entweder frisch (dem Mund entnommen) oder tiefgefroren untersucht. Die so erlangten Ergebnisse können jedoch im Hinblick auf die forensische Medizin nur eine Grundlage für weitere Untersuchungen bilden, da am Tatort in der Regel weniger ideale Verhältnisse anzutreffen sind; man kann nur vermuten, wo sich Speichel befindet, und einmal lokalisiert ist er meist Stunden oder Tage alt und angetrocknet.

Die dargestellten Untersuchungsergebnisse sind somit für die Verbrechensaufklärung nur nutzbringend, wenn es möglich ist, nicht nur frischen bzw. tiefgefrorenen Speichel auf ausgesuchten Trägern zu bestimmen, sondern auch älteren und angetrockneten Speichel, der sich auf den verschiedensten Objekten (z.B. Glas, Zigaretten, Stoff etc.) befinden kann.

Für die forensische Medizin ist also von großer Bedeutung, wie sich Speichel bei Raumtemperatur verhält bzw. verändert.

Um zu überprüfen, ob und wie lange Speichel bei Raumtemperatur nachweisbar ist, wurden die in der vorliegenden Arbeit dargestellten Untersuchungen durchgeführt.

UNTERSUCHUNGSMATERIAL UND METHODE

Die Herstellung der erforderlichen Präparate erfolgte in Anlehnung an DE SOYZA (1978),[3] PRONK (1977)[13] und KOHNL/TISCHBERGER (198o).[7]

Es wurden Speichelproben von sechs verschiedenen Personen untersucht. Die sechs Probanden befeuchteten an fünf aufeinanderfolgenden Tagen jeden Morgen einen Streifen Whatman-Papier mit Speichel, indem sie den Streifen ca. 3o Sekunden im Mund behielten. Diese Speichelstreifen wurden bis zum Versuchsbeginn am fünften Tag bei Raumtemperatur aufbewahrt.

Bei den Untersuchungen wurde die Methode der Iso-Elektrofokusierung angewandt, da mit dieser - wie die Untersuchungen von BEELEY (1969),[1] PRONK (1977),[13] DE SOYZA (1978)[3] und KOHNL/TISCHBERGER (198o)[7] gezeigt haben- die besten Ergebnisse bei Speicheluntersuchungen erreicht wurden. Die Elektrofokusierung zeichnet sich gegenüber anderen Methoden insbesondere durch eine erhöhte Auflösung der Banden und eine verbesserte Nachweisempfindlichkeit aus. Diese Methode baut darauf auf, daß Proteine einen bestimmten isoelektrischen Punkt haben (vgl. BEELEY).[1]

Elektrofokusierungen können nur durchgeführt werden, wenn innerhalb der Trennstrecke ein linearer und stabiler pH-Gradient vorliegt. Zur Erzeugung solcher pH-Gradienten verwendet man Ampholine® Trägerampholyten, die aus einer Vielzahl niedermolekularer Polyamino-polycarbonsäuren be-

stehen. Diese Ampholine® Trägerampholyten haben unterschiedlichste pI-Werte im pH-Bereich 2,5 - 11. Damit die Auflösung von Proteintrennungen verbessert wird, benutzt man am besten schmalere pH-Gradienten. Für meine Untersuchungen habe ich z.B. eine PAG-Fertigplatte[20] mit einem pH-Gradienten von 5,5 - 8,5 benutzt.
PAG-Fertigplatten besitzen geringere elektroendoosmotische Eigenschaften, können besser gekühlt und einer höheren elektrischen Leistung ausgesetzt werden. Die Trennzeiten werden so verkürzt und eine verbesserte Auflösung erreicht. Außerdem können auf PAG-Platten mehrere Proben gleichzeitig und unter identischen Versuchsbedingungen elektrofokusiert werden, so daß man Vergleichsanalysen durchführen kann. Gerade letzter Punkt war für meine Untersuchungen sehr bedeutsam, da es mir wichtig war, alle 25 Proben (5 verschiedene Probanden über 5 Tage) in einem Durchgang zu analysieren.

Für die Durchführung der Untersuchung wird zunächst die PAG-Platte für die Probenaufgabe vorbereitet. Zuerst wird etwas Kontaktflüssigkeit (hier Kerosin) auf die Kühlplatte der Elektrofokusierungsplatte gegeben und darauf die PAG-Fertigplatte gelegt. Dann wird je ein Filterkartonstreifen mit anodischer bzw. kathodischer Elektrolytlösung getränkt. Für diese Untersuchungen habe ich für den kathodischen Streifen o,1 m Sodiumhydroxid, für den anodischen o,4 m "Hepes" (N-2-Hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethanesulfonie acid) benutzt. Diese Streifen werden so auf die Geloberfläche gelegt, daß der anodische Streifen auf der (+)-

Position und der kathodische auf der (-)-Position liegt.

Um die hohe elektrische Leistung hervorzubringen, wurde bei den vorliegenden Untersuchungen für eine 3/4 Stunde bei 15o V und 4o mA vorfokusiert (so auch KOHNL/TISCHBERGER (198o)[7]), indem die Kammer mit der präparierten Gelplatte durch einen Deckel verschlossen und das Netzgerät eingeschaltet wurde.

Die Vorfokusierung bewirkt ebenfalls verkürzte Trennzeiten und eine bessere Auflösung.

Nach der 3/4stündigen Vorfokusierung beträgt die Spannung 12oo Volt.

Die Kammer wird jetzt wieder geöffnet, um die Proben auf die Gelplatte setzen zu können. Die vorbereiteten Whatman-Papier-Proben wurden in fünf, nach Tagen geordneten Gruppierungen, so auf die Gelplatte plaziert, daß sie jeweils 1 cm von dem kathodischen Filterkartonstreifen entfernt liegen.

Nach Schließen des Kammerdeckels wurde mit der Elektrofokusierung begonnen. Um die Whatman-Probenplättchen entfernen zu können, wurde nach zwei Stunden kurz unterbrochen. Während der gesamten Elektrofokusierungszeit von vier Stunden, wurde die Volt-Zahl langsam bis zu einer Spannung von 2ooo V gegen Versuchsende erhöht. Die Ampere-Zahl hat sich dabei auf 1o mA erniedrigt.

Nach abgeschlossener Elektrofokusierung werden die unterschiedlichen Isoenzyme über selektive Färbeverfahren nachgewiesen. Bei vorliegenden Untersuchungen wurde die gleiche Färbemethode angewandt, die auch DE SOYZA[3)] benutzte, da sie bei ihren Arbeiten mit dieser Methode erfolgreich war.

Während der laufenden Elektrofokusierung werden die für die Färbung erforderlichen Vorbereitungsarbeiten getroffen. Zunächst wurde die Färbelösung hergestellt, indem vier Phadebas ® - Tabletten[21)] in 16 ml destillierten Wasser gelöst wurden. Zur verbesserten Auflösung der Phadebas ® - Tabletten wurde ein Magnetrührer verwendet.
In einem zweiten Reagenzglas wurde Agar und destilliertes Wasser bei leichter Hitze zu 1,5%-igem Agargel gemixt. Dieses Gel und die Färbelösung wurden miteinander vermischt. Während die Masse noch heiß war, wurde sie ca. 3 mm dünn - durch vorsichtiges und schnelles Gießen - auf eine Glasplatte aufgetragen. Die beschichtete Glasplatte wurde bis zum Abschluß der Elektrofokusierung in einen Kühlschrank mit einer Temperatur von ca. 4^{0} C gelegt.

Nach Beendigung der Elektrofokusierung wird die PAG-Fertigplatte so auf die gekühlte Glasplatte gelegt, daß die Seite, die in der Elektrofokusierungskammer nach oben gezeigt hat, auf die beschichtete Seite der Gelplatte zu liegen kommt. Die aufeinandergelegten Platten werden für 45 Minuten in eine Inkubationskammer gelegt, die eine Temperatur von 37° C hat.

Nach Ablauf der 45 Minuten sind auf der Platte violette Banden auf hellem Hintergrund zu erkennen. Diese Färbung ist dadurch entstanden, daß das gefärbte Agargel an den Stellen in die Poren der Polyacrylamid-Matrix eingedrungen ist, wo sie die durch die Elektrofokusierung separierten Speichelamylasemoleküle jeweils gesammelt haben (vgl. DE SOYZA[3]).

ERGEBNIS

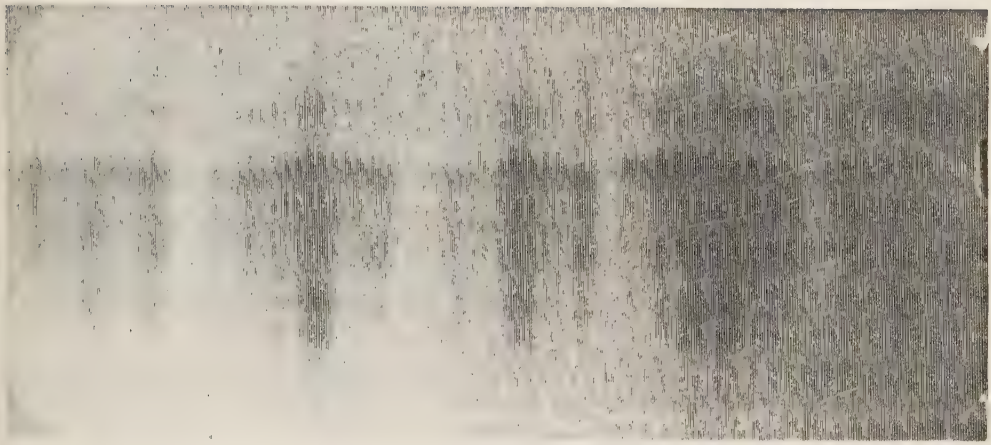

ABB. II

Wie auf obigem Foto zu sehen ist, weist die elektrofokusierte PAG-Platte eine von links nach rechts zunehmende Färbungsintensität auf; d.h. die Proben vom 5. Tag sind am deutlichsten sichtbar. Daraus ist zu entnehmen, daß die Amylaseaktivität bei den frischesten Proben vom 5. bzw. letzten Untersuchungstag am höchsten war und abnimmt, desto älter die Speichelproben werden.

Bei vorliegender Untersuchung ist bei den Proben vom 1. Tag noch eine leichte Färbung zu erkennen. Das bedeutet, daß auch fünf Tage bei Raumtemperatur gelagerte Speichelamylase noch nachweisbar ist, heißt aber nicht, daß dann auch der Phänotyp der jeweiligen Amylase noch bestimmbar ist (dazu u.) sondern nur, daß die Speichelamylase generell noch nachzuweisen ist.

Die Untersuchungen haben gezeigt, daß zwischen den einzelnen Probanden Unterschiede in der Stärke der Färbung bestehen: einige weisen eine wesentlich stärkere Färbung auf als andere. Daraus ist zu schließen, daß der jeweilige Speichelamylasegehalt individuell verschieden ist. Dieses haben auch Untersuchungen von DE SOYZA (1981)[4] gezeigt. Es läßt sich also kein absolut exakter Zeitraum für die Nachweisbarkeit der Speichelamylase bestimmen. Aufgrund dieser Untersuchungen ist für bei Raumtemperatur gelagertem Speichel von einem Nachweisbarkeitszeitraum von bis zu fünf Tagen auszugehen.
Fraglich ist, ob sich auch der Phänotyp bis zu diesem Zeitpunkt bestimmen läßt. Für den Phänotyp der einzelnen Speichelamylase sind die insbesondere bei den Proben vom 5. Tag gut zu erkennenden schmalen und breiten Banden maßgebend.

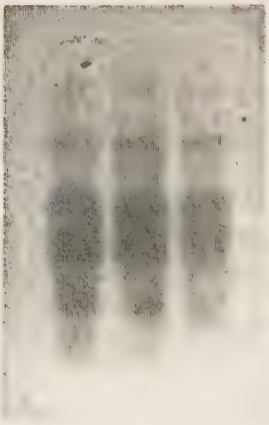

Abb. III

Wie Untersuchungen von KOHNL/TISCHBERGER (198o),[7] DE SOYZA (1978)[3] u.a. gezeigt haben, gibt es fünf verschiedene Phänotypen der Speichelamylase. Die Unterscheidung erfolgt nach der Anordnung der einzelnen Banden, die durch die Elektrofokusierung herausgefunden wurde.

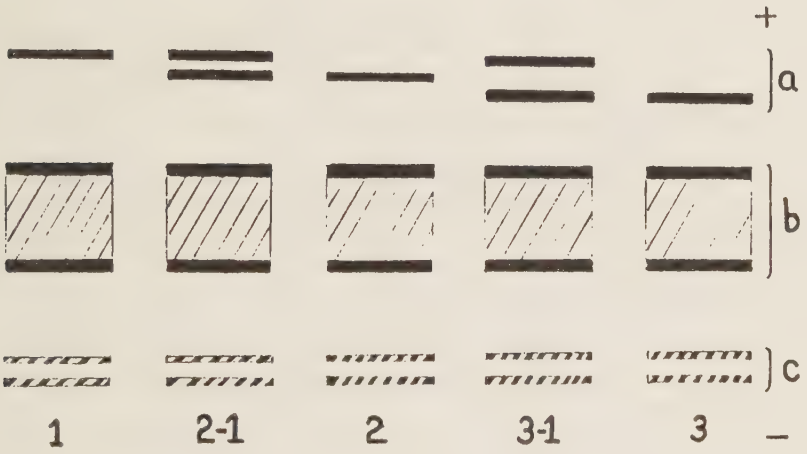

Abb. IV: Diagramm nach DE SOYZA
Darstellung der durch Elektrofokusierung gefundenen verschiedenen Phänotypen von Speichelamylase

Wie aus dem Diagramm zu ersehen ist, hat jeder der fünf Typen eine breite b-Zone an der kathodischen Seite. Die Unterscheidung der einzelnen Typen erfolgt jedoch nach der unterschiedlichen Anordnung der schmalen Banden, die anodal zur b-Zone in der a-Zone liegen. Die bei allen Phänotypen gleiche b-Zone ist als Referenzpunkt für die anodal liegenden schmalen Banden maßgebend.

Untersuchungen von PRONK (1977),[13] PRONK (1978),[14] DE SOYZA (1978),[3] KOHNL/TISCHBERGER (1980)[7] haben gezeigt, daß das Auftreten der einzelnen Phänotypen sehr unterschiedlich ist: die Häufigkeit der bisher gefundenen fünf Typen beträgt:
Typ 1 = 82%, Typ 2-1 = 12%, Typ 2 = 0,6%, Typ 3-1 = 4,7%, Typ 3 = 0,7 %

Bei den vorliegenden Versuchen ist die für den Phänotyp entscheidende Anordnung der schmalen Banden am deutlichst bei den Proben vom letzten, d.h. 5. Versuchstag zu erkenn (vgl. Abb. III).
Erkennbar ist sie auch noch am 4. Tag und angedeutet am 3. Tag (vgl. Abb. II).

Als Ergebnis der durchgeführten Untersuchungen ist festzu stellen, daß bei der angewandten Methode die generelle Nachweisbarkeit von Speichelamylase bis zu fünf Tagen, di Bestimmung des Phänotyps aber nur bis zu maximal drei Tag möglich ist, wenn der Speichel bei Raumtemperatur aufbewahrt wird.
Die generelle Nachweisbarkeit ist für die forensische Medizin jedoch unbedeutend, da nur die Bestimmung des Phänotyps Rückschlüsse auf den möglichen Täter erlaubt.

DISKUSSION

Bei den forensischen Untersuchungen stellen sich zwei fundamentale Probleme: erstens ist Speichel nicht sichtbar und kann somit oft nicht sofort lokalisiert werden; zweitens muß der Speichel, wenn er einmal entdeckt ist, noch identifiziert werden können.

Die bisher bewährte ABO-Methode hat den großen Vorteil, daß sie relativ zeitunabhängig ist; mit ihr lassen sich auch noch 1-2 Monate alte Speichelproben bestimmen. Es besteht aber immer eine große Herausforderung, bestehende Untersuchungsmethoden zu verbessern und neue zu finden, um so die unterschiedlichen Phänotypen des Speichels näher spezifieren zu können.

Wie in vorliegender Arbeit beschrieben, haben sich Untersuchungen anderer mit der Identifizierung des Speichels befaßt und herausgefunden, daß für die Bestimmung des Phänotyps die Amylaseaktivität von großer Bedeutung ist. Da die Amylaseaktivität bei frischem Speichel am höchsten ist, wurden diese Untersuchungen unter optimalen Bedingungen, d.h. frischer Speichel, der gefroren wurde (s.o.), durchgeführt.

Bei kriminalistischen Untersuchungen erfolgt die Sicherstellung des "Speichels" in der Regel erst nach Tagen oder

Stunden. Wie vorliegende Versuche gezeigt haben, ist gerade dieser Zeitraum für die Speichelanalysierung von größter Bedeutung, da die Amylaseaktivität bei Raumtemperatur schnell nachläßt. Die Folge sind diffuse oder gänzlich unsichtbare Banden bei nachfolgenden Untersuchungen. Dieses läßt sich bei meinen Untersuchungen gut an den Proben vom 3. Tag bis zum 1. Tag nachvollziehen (vgl. Abb. II).

Wenn aber die Banden in der relevanten a-Zone nicht oder nur verschwommen sichtbar gemacht werden können, ist eine Bestimmung des Phänotyps nicht bzw. nicht mit der nötigen Sicherheit möglich.
Bei vorliegendem Versuch sind nur die Proben vom 5. Tag deutlich ablesbar (vgl. Abb. II). Unter Umständen lassen sich auch für die übrigen Tage bessere Nachweisergebnisse erzielen, wenn man den Speichel zuvor dialysiert, da ab einem bestimmten Salzgehalt (KOHNL:[8] 5o m molar) die Elektrofokusierung negativ beeinflußt wird und somit auch die spätere Ablesbarkeit durch diffuse Banden beeinträchtigt wird (vgl. u.a. BEELEY[1]).

In der Praxis würde eine Dialyse der aufgefundenen Speichelreste jedoch schwer zu realisieren sein, da es sich meist um sehr geringe Speichelrückstände auf verschiedensten Materialien handelt. Bereits das Transferieren der gefundenen Speichelreste vom jeweiligen Träger auf die PAG-Platte stellt Probleme.
Bei den am Tatort gefundenen Objekten kommen Gläser, Zigaretten, Gesichtsmasken, Stoffe aller Art und bei Sexual-

verbrechen insbesondere Bettwäsche und das Opfer selbst in Betracht.
Eventuell lassen sich die geringen Speichelrückstände mit Kochsalzlösung vom jeweiligen Träger abwaschen. Bei solchem Vorgehen wäre eine Dialyse der Probe unbedingt erforderlich.

Wahrscheinlich wäre das Versuchsergebnis aber negativ, da durch das Abwaschen und die Dialyse der bei solchen Proben ohnehin schon geringe Amylasegehalt noch weiter reduziert würde.
Eine weitere Schwierigkeit besteht darin, daß sich Speichelspuren auf Gläsern und Zigaretten so gut wie nicht nachweisen lassen.

Bei Zigaretten verbindet sich die Amylase mit der Stärke des Filterpapiers, was zu einem Amylaseverlust führt. Dieses haben Untersuchungen von BEELEY (1969)[1] und DE SOYZA (1981)[4] gezeigt. Wenn aber keine Amylaseaktivität vorhanden ist, ist eine Bestimmung des Phänotyps nicht möglich.

Auch bei Speichelspuren auf Gläsern ist der Nachweis quasi unmöglich, da im Lippenmucus nur eine sehr geringe Amylaseaktivität herrscht. Versuche von KIPPS und WHITEHEAD (1975)[6] haben gezeigt, daß die Amylaseaktivität hier mindestens 100-mal geringer ist, als die der Speichelamylase.

Die Nachweisempfindlichkeit müßte daher sehr stark erhöht werden, um auch diese geringe Amylaseaktivität noch nachweisen zu können.

Erfolgreich waren Untersuchungen von Speichelresten auf Nylonstrümpfen, Baumwolle und ähnlichen Materialien. Soweit Nylonstrümpfe als Gesichtsmasken verwendet werden, ist anzunehmen, daß der Atem erschwert wird und es so zu erhöhtem Speichelfluß kommt. Aus den besonders guten Nachweisergebnissen (vgl. DE SOYZA (1981)[4]) bei Nylonstrümpfen ist zu schließen, daß sich der Speichel gerade in diesem synthetischen Material besonders gut vernetzt und z.B. bei Baumwolle von dem Material gut absorbiert wird.

ZUSAMMENFASSUNG

Ziel und Inhalt der vorliegenden Dissertation war die Untersuchung der zeitlichen Nachweisgrenzen der Amylaseaktivität unter normalen Bedingungen mittels Elektrofokusierung und inwieweit Speichel für kriminalistische Untersuchungen von Bedeutung sein kann.

Anderen gelang es bereits in ihren Untersuchungen, bestimmte Speichelamylaseklassifizierungen zu erstellen. Diese Untersuchungen wurden jedoch nur an frischem bzw. frisch gefrorenem Speichel durchgeführt. Die vorliegende Arbeit hat gezeigt, daß bei Raumtemperatur gelagertem Speichel diese Amylaseklassifizierung nur bis zu maximal drei Tagen mit hinreichender Sicherheit möglich ist.

Bei der kriminalistischen Arbeit ist daher zu beachten, daß gefundene Speichelreste so schnell wie möglich untersucht oder zumindest tiefgefroren werden. Soweit Speichel früh genug und auf dem richtigen Objekt entdeckt wird, kann er für die forensische Medizin durchaus eine wertvolle Hilfe zur Ergreifung des Täters sein.

LITERATURVERZEICHNIS

1) BEELEY J.A.: Separation of Human salivary Proteins by Iso-Electric focusing in polyacrylamide gels; Archs oral Biol Vol 14, 559-561 (1969)

2) BERNFELD P., DUCKERT F., FISCHER E.H.: Prospriétés de l'alpha-amylase de pancréas humain, Comparison avec les autres alpha-amylases cristallisées.
Sur les enzymes amylolytiques XV. Helv.chim. Acta 33, 1o64-1o7o (195o)

3) DE SOYZA K.: Polymorphism of Human Salivary Amylase; Hum Genet. 45, 189-192 (1978)

4) DE SOYZA K.: Determination of Phenotypes of salivery amylase in liquid salive and saliva stains; Forensic science Int. 2o, 1-7 (1982)

5) KAMARYT J., LAXOVA R.: Amylase Heterogeneity, some Genetic and Clinical Aspects; Humangenetik Bd 1, 579-586 (1965)

6) KIPPS A.E.,WHITEHEAD P.H.: The significance of amylase in forensic investigations of body fluids; Forensic science 6, 137-144 (1975)

7) KOHNL P., TISCHBERGER H.: Amylase polymorphism of human parotid saliva: Detection of a new allele, AMY by isoelectric focosing and AMY population data from Germany; Electrophoresis 1, 186-19o (198o)

8) KOHNL P.: Arbeitsanleitung zur Bestimmung einiger Serumprotein- und Isoenzympolymorphismen durch Elektrofokusierung; Hrsg. LKB, Bromma, Schweden

9) LORENTZ K.: -Amylase - Eigenschaften, Analytik und klinische Bedeutung; Lab.Blätter 32, 117-128 (1982)

1o) MEITES S., ROGALS S.: Amylase isoenzymes CRC Crit Rev. Clin. Lab. Sci 2, 1o3-138 (1971)

11) MERITT A.D., RIVAS M.L., BIXLER D., NEWELL R.: Salivary and pancreatic amylase: Electrophoretic characterization and genetic studies; Am. J. Hum. Genet. 25, 51o-522 (1973)

12) OGITA S.: Genetico-biochemical studies on the salivery and pancreatic amylase isozymes in human. Med. J. Osaka Univ. 16, 271-281 (1966)

13) PRONK J.C.: A genetic variant of amylase from human parotid saliva detected by isoelectric focusing; in Electrofocusing and isotachophoresis
Hrsg: B.J. Radola u.D. Graesslin, de Gruyter 1977; S. 359-366

14) PRONK J.C., FRANTS R.R.: New genetic variants of parotid salivary amylase; Hum Hered 29, 181-186 (19

15) SKUDE G: Isoenzyme variation of human salivary amylase; Humangenet. 12, 255-256 (1971)

16) SKUDE G., JEPPSON JEPPSON J.O.: Thin layer electrofocosi followed by electrophoresis in antibody containing gel
Skand J.Clin Lab. Invest. 29, 55-58 (1972)

17) SVENSSON H.: Isoelectric fractionation, analysis and characterization of ampholytes in natural pH gradients. I. The differential equation solute concentrations at a steady state and its solution for simple cases; Acta chem. scand. 15, 325-341 (1961)

18) VESTERBERG O., SVENSSON H.: Isoelectric fractionation, analysis and characterization of ampholytes in natural pH gradients. IV. Further studies o the resolving power in connection with separation of myoglobins; Acta chem. scand. 2o, 82o-834 (1969)

19) WARD J.C., MERITT A.D., BIXLER D.: Human salivary amylas Genetics of electrophoretic variants; Am. J Hum. Genet. 23, 4o3-4o9 (1971)

2o) PAG = Polyacrylamid Fertigplatten, LKB Produkter, Schwed

21) Pharmacia Diagnostics AG, Uppsala

LEBENSLAUF

Am 29. Oktober 1954 wurde ich als zweiter Sohn des Maximilian Kaindl und seiner Ehefrau Ruth Kaindl, geb. Scheu, in Buenos Aires, Argentinien, geboren.

Von 1960 bis 1968 besuchte ich die Elementary School (Volksschule) in San Francisco; anschließend die allgemein bildende Highschool, wo ich 1972 die Reifeprüfung ablegte.

Im gleichen Jahr ging ich für ein Jahr zum San Mateo Junior College und studierte Architektur.

Anfang 1975 wechselte ich dann zur University of Maryland und absolvierte dort 1977 ein Degree of Associate Arts.

Seit dem Sommersemester 1977 studierte ich Zahnheilkunde an der Ludwigs-Maximilians-Universität in München, wo ich 1980 die zahnärztliche Vorprüfung und im Sommer 1982 das Staatsexamen absolvierte.

Anschließend kehrte ich nach Kalifornien zurück, um auch dort mein zahnmedizinisches Examen abzulegen.